

BIOKEMIJA CINKA

Robert Domitrović, Čedomila Milin

Zavod za kemiju i biokemiju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci

SAŽETAK - Cink je esencijalan oligoelement. Ima trostruku ulogu u metabolizmu: katalitičku, kokatalitičku i strukturnu. Potreban je za djelovanje više od 300 metaloenzima, preko 500 proteina regulatora gena, a ima i niz drugih uloga u stanici i izvan nje. Uzevši u obzir značenje u dijeljenju i diferencijaciji stanica, programiranoj staničnoj smrti, transkripciji DNA, djelovanju bioloških membrana, imunološkog sustava, hormona, razgradnji izvanstaničnih peptida, sintezi i razgradnji kolagena i dr., cink vjerojatno ima vodeću ulogu u omogućavanju ispravnog djelovanja različitih tkiva, organa i cijelog organskog sustava. Nedostatak cinka u prehrani značajan je problem širom svijeta, jednako kao i anemija uslijed nedostatka željeza. Nedostatak cinka u prehrani povezan je s brojnim simptomima. Također, kod mnogih bolesti primjećuje se manjak cinka u organizmu.

Ključne riječi: cink, proteini, enzimi.

RASPROSTRANJENOST I OSOBINE CINKA

U prirodi je cink prisutan u količini manjoj od 0,02%. Relativna koncentracija slobodnih cinkovih iona u biološkim sustavima kreće se u rasponu od 10^{-9} mol/dm³ u citoplazmi mnogih stanica do 10^{-3} mol/dm³ u nekim organelama. Glavne karakteristike cinka uključuju malen radijus (0,65 Å), nepromjenljivu valenciju (što smanjuje ulogu u tvorbi slobodnih radikala), brzu izmjenu liganada (vežu se uglavnom na S- i N- donore elektrona u biološkim sustavima) i njegova amfoterna svojstva. Značajno je također da je stereokemijski fleksibilan, odnosno može postići raznoliku koordinacijsku geometriju (1).

Cink se unosi u organizam hranom, vodom za piće, pa čak i zrakom. Standardnom prehranom unosi se dnevno 10-15 mg cinka. Sadrže ga žitarice i brašno, šećer, meso, ribe, masti, orasi i dr. Današnje su namirnice zbog rafiniranja siromaš-

nije cinkom. Rafinirano brašno sadrži samo 20% žitnog cinka, dok se rafiniranjem šećera gubi gotovo sav cink. Danas su glavni izvori cinka crni ili raženi kruh, meso, riba i orasi (2).

CINK U ORGANIZMU

U tijelu odrasle zdrave osobe ima oko 1,3 do 2,3 g cinka koji se uglavnom nalazi u stanicama, tako da je cink najzastupljeniji stanični oligoelement. Cink se u duodenumu i proksimalnom jejunumu brzo resorbira u crijevnu stijenku. Prvo se veže za površinu membrana, a zatim polako prolazi kroz membrane, vjerojatno vezan na ligand-cisteinom bogati protein (CRIP-cystein rich intestinal protein) koji omogućava transcelularni transport (3). Na smanjenu apsorpciju cinka utječu neki kationi, poput kalcija (4) i željeza (5), dok neke aminokiseline, poput histidina i triptofana (6), imaju pozitivan učinak na njegovu apsorpciju. Željezo inhibira apsorpciju cinka kada se oba elementa unesu u otopini, ali ne i u hrani

Adresa za dopisivanje:

Dr. sc. Robert Domitrović, Medicinski fakultet Rijeka, B. Branchetta
20, 51 000 Rijeka, tel/fax. 051/651 135; E-mail: robertd@mamed.medri.hr

(5). Apsorpciju pospješuju i dugolančane masne kiseline: zasićenost i duljina lanca imaju pozitivan utjecaj (7). Pikolinat, citrat, i fitat *in vitro* značajno inhibiraju apsorpciju tvorbom kompleksa s cinkom, koji su ili netopljivi ili onemogućavaju vezanje cinka na receptore u mukozu (8). No, *in vivo* istraživanja ukazuju da se apsorpcija cinka povećava kompleksiranjem cinka s pikolinatom, za razliku od citrata ili glukonata (9).

U obliku kompleksa s proteinima cink se nalazi u stanicama gotovo svih organa. Najviše ga ima u prostati, zatim jetri, bubregu, slezeni, pankreasu, plućima, mišićima, srcu i dr. (10).

U krvnoj plazmi cink se veže za albumine, transferin, α 2-makroglobulin i α 2-glikoprotein (11). Iz organizma se većim dijelom izlučuje fecesom, a manjim dijelom urinom (12). Nalazi se i u drugim tjelesnim tekućinama, slini, želučanom soku, žuči i znoju pa se kod jakog znojenja gubi i tim putem (13). Koncentracija cinka u serumu mijenja se u nizu bolesti. Povećana koncentracija nalazi se u hipertenziji, eozinofiliji, multiplom mijelomu i katkad u megaloblastičnoj anemiji (2). Organizam je mnogo više izložen nedostatku cinka, do kojeg najčešće dolazi zbog neadekvatne prehrane.

Klinička slika nedostatka cinka kod ljudi uključuje zastoj u rastu, hipogonadizam kod muškaraca, promjene na koži, slab apetit, letargiju, neurosenzorne poremećaje, otežano zarastanje rana i podložnost infekcijama (14).

Nedostatak može biti posljedica nekih bolesti ili terapije anabolicima te kelatorima poput penicilamina (15). Smanjena koncentracija cinka u serumu prati akutnu tuberkulozu, akutne i kronične infekcije, infarkt miokarda, cirozu jetre, hepatitis, poremećaje gastrointestinalnog sustava, opekline, neke vrste malignih tumora, pernicioznu anemiju, tešku aterosklerozu, uremiju, nefrotski sindrom te jedan genetski poremećaj, acrodermatitis enteropatica. Cirozu jetre, nefrozu i stanje poslije kirurškog zahvata prati pojačana cinkurija (2). Cink je značajan modulator središnjeg živčanog sustava (SŽS) kod sisavaca. Pronađen je u visokim koncentracijama u hipokampusnim i kortikalnim neuronima, koji otpuštaju ione cinka zajedno s neurotransmiterima. Cinkovi ioni moduliraju prvenstveno ekscitacijske i inhibicijske neurotransmisijske puteve u SŽS. Nedostatak cinka utječe na neuroaktivnost, uzrokujući depresije (16), neuropsihijatrijske smetnje (17) i ataksiju (18).

Smanjena koncentracija u serumu može se pojaviti i u trudnoći, jer fetus troši majčin cink (7).

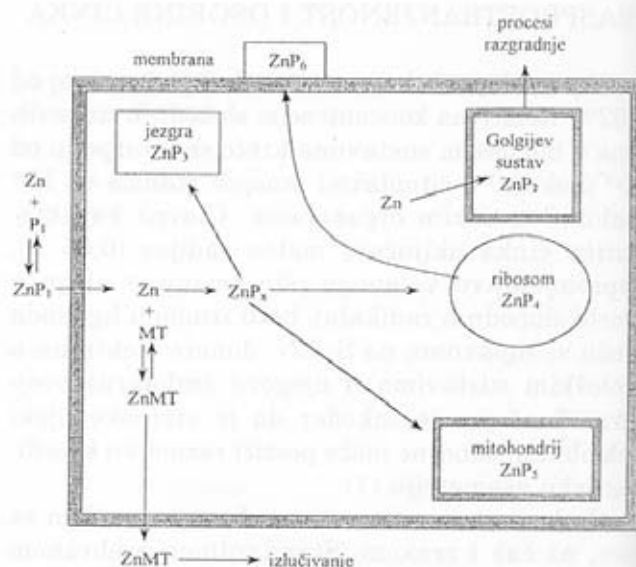
Manjak cinka utječe i na metabolizam ureje, amonijaka kao i dušika (19).

Cink je najčešći katalitički metalni ion u citoplazmi. Primjerice, željezo je češće prisutno na membranama, mangan u nekim vezikulama ili organelama, a bakar uglavnom izvan stanice. Na membranama stanica prisutni su proteini koji vežu cink (20).

PROTEINI KOJI VEŽU CINK

Vežući se s proteinima, cink sudjeluje u brojnim reakcijama unutar stanice ili na njezinoj površini (slika 1):

- u jezgri sudjeluje u regulaciji aktivnosti DNA (21);
- stabilizira (22) i zaštićuje membrane (23);
- inhibira lipidnu peroksidaciju (24) te nastanak slobodnih radikala (25);
- inducira metalotioneine jetre koji su bogati SH skupinama na koje se vežu toksični metali kao što je bakar (26);
- u jetri (27) i kostima (28) stimulira, a u neuronima inhibira (29) sintezu proteina;
- smanjuje određene oblike citokroma P-450 (30);
- kao dio brojnih staničnih i vanstaničnih enzima cink utječe na regulacijske biokatalitičke mehanizme; primjeri su porast aktivnosti protein kinaze C u membranama limfocita (31), akti-



Slika 1. Različite uloge cinka unutar i izvan stanice; P - protein, MT - metalotionein (20) (vidi tekst)

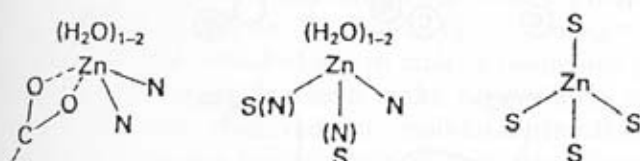
Figure 1. The variety of roles played by zinc inside and outside the cell; P - protein, MT - metallothionein (20) (see text)

vacija T-staničnog timulina koji regulira dozrijevanje T-stanica u timusnom epitelu (32), inhibicija kaspaze-3 te sprječavanje apoptoze (33).

Cink u izvanstaničnom prostoru dio je enzima koji nastaju bilo u stanici, bilo u izvanstaničnim vezikulama gdje se neovisno izlučuju proteinske molekule i ioni cinka, a sudjeluju u degradacijskim procesima (20):

- većine vezivnog tkiva (kolagenaza, gelatinaza);
- proteina u probavnom sustavu (pankreasna karboksipeptidaza);
- peptidnih hormona (endopeptidaze 24.11).

β -ravnina je prevladavajuća struktura enzima koji za svoju aktivnost trebaju cink. Smatra se da, pošto se proteini sklupčavaju u odsutnosti cinka, ovakva relativno ukružena struktura doprinosi postizanju koordinacijske geometrije. Također postoji čitav niz enzima koji ne vežu cink izravno u aktivnom središtu. Kod ovih proteina metal djeluje kao veza između tiolata, obično četiri, ili u kombinaciji tiolata i His (Slika 2). Ovakvo vezanje cinka omogućuje kontrolu količine proteina u stanici, stabilizirajući ih i sprječavajući hidrolizu (20).



Slika 2. Atomi donori elektrona u nekim mjestima koja vežu cink (S - sumpor Cys, N - imidazolni dušik His, O - kisik Asp ili Glu) (20).

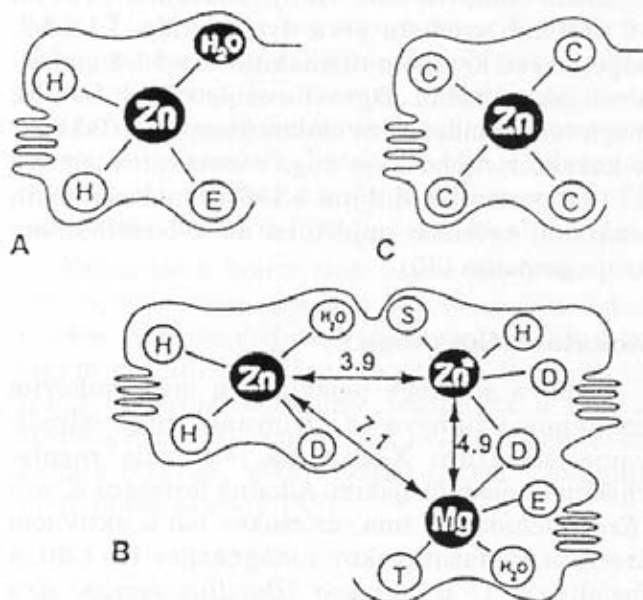
Figure 2. Atom electron donors in some zinc binding places (S-sulphur of Cys, N-imidazole nitrogen of His, O-oxygen of Asp or Glu) (20)

ENZIMI KOJI VEŽU CINK

Niz enzima sadrži cink koji omogućuje vezanje supstrata za aktivni centar tih enzima. Prije tridesetak godina bila su poznata samo tri enzima za čiju je aktivnost bio potreban cink (karboanhidraza, karboksipeptidaza i alkohol dehidrogenaza); danas ih je poznato više od 300 (12). Aktivirajuće svojstvo cink ima samo u vrlo malim koncentracijama, dok u većim koncentracijama iste enzime inhibira. Prema ribonukleazi pokazuje isključivo inhibicijski učinak (34).

Cink ima trostruku ulogu u mehanizmu djelovanja enzima i metabolizmu općenito: katali-

tičku, kokatalitičku i strukturnu ulogu (slika 3, tablica 1) (35). Kao metalni ion cink izravno sudjeluje u enzimskoj katalizi; uklanjanje cinka kelatizacijom inaktivira enzime. Cinkov ion u kokatalitičkom položaju poboljšava katalitičku ulogu u sprezi s cinkom u aktivnom središtu istog enzima.



Slika 3. Uloga cinka u cinkovim enzimima: (A) katalitička, (B) kokatalitička, (C) strukturna; T=Thr, H=His, C=Cys, D=Asp, E=Glu (21)

Figure 3. Zinc role in zinc enzymes: (A) catalytic, (B) cocatalytic, (C) structural; T=Thr, H=His, C=Cys, D=Asp, E=Glu (21)

Tablica 1. Biološka svojstva cinka (21)

Table 1. Biological properties of zinc

Uloga Role	Svojstva Properties
Katalitička	O cinku je ovisno preko 300 enzima (38).
Kokatalitička	Koncentracija slobodnih cinkovih iona prilagođava stupanj zasićenosti cinkom cink-vezujućih mjesta (općenito više od jednog po molekuli) za katalitičko i strukturno djelovanje.
Strukturna	"Zinc finger" strukture u transkriptazama, hormonskim receptorima na jezgri, nekim hormonima (timulin) i enzimima (protein kinaza C).

Katalitička uloga

Ion cinka je dobar primalac elektrona (Lewi-sona kiselina), koji polarizira skupine na koje se veže. Cink tvori komplekse s heteroatomima

donorima elektrona, s učestalošću vezanja His>>Glu>>Cys (35). Molekula vode četvrti je ligand cinkovog iona (Slika 3A). Priroda liganada i stupanj ionizacije molekule vode utječu na ukupni naboj aktivnog središta kompleksa, koji ima oblik mono- ili di-kationa.

Točnost aminokiselinskog razmaka između liganada cinkovih iona vrlo je značajna. U 15 od 16 aktivnih središta prva dva liganda, L1 i L2, odijeljeni su kratkom razmaknicom od 1-3 aminokiselinska ostatka. Ispravno orijentirani, L1 i L2 mogu tvoriti bidentatni cinkov kompleks. Također je karakteristično da je duga razmaknica između L1 i L2 prema L3, duljine 5-196 aminokiselinskih ostataka, općenito smještena na C-terminalnom kraju proteina (35).

Kokatalitička uloga

Ovakva se uloga pojavljuje u multicinkovim enzimima i njihovo se djelovanje, prije određivanja strukture X-zrakama, smatralo regulacijskim ili modulacijskim. Alkalna fosfataza *E. coli* (*Escherichia coli*) ima, uz cinkov ion u aktivnom središtu, dodatni cinkov i magnezijev ion (36), a fosfolipaza *C. B. cereusa* (*Bacillus cereus*) dva dodatna cinkova iona (37) (Slika 3B). Dodatna dva cinkova iona *B. cereusa*, odnosno drugi cinkov i magnezijev ion *E. coli*, povezuju se premoštavanjem jedne aminokiseline, obično Asp. Tako su sva tri iona na međusobno maloj udaljenosti. Promjene udaljenosti, disocijacija atoma donora s pripadajućih metala tijekom enzimske katalize ili tvorba "posrednika", može značajno utjecati na katalizu zbog promjene naboja metala. Dok His i Cys prevladavaju kao ligandi cinkovih iona s katalitičkom i strukturnom ulogom, Asp pretežno koordinira cink s kokatalitičkom ulogom, s učestalošću Asp>His>Glu (10).

Strukturna uloga

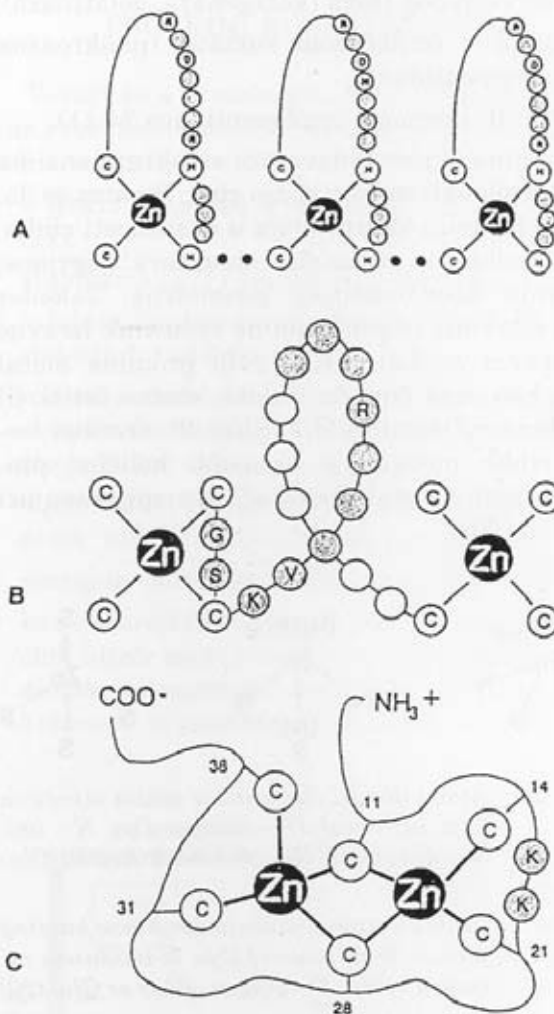
Do sada su ioni cinka sa strukturnom ulogom u enzimima pronađeni samo kod alkohol dehidrogenaze i aspartat transkarbamilaze. Kod ova dva enzima cink je potpuno tetraedarski koordiniran s četiri Cys (slika 3C) (35).

Strukturna uloga cinka utvrđena je i kod brojnih drugih proteina (tablica 1).

PROTEINI REGULATORI GENA

Uloga cinka u sintezi DNA i RNA i dijeljenju stanica opažena je 1970-ih. Cink pozitivno utječe na DNA i RNA sintezu. Ima važnu ulogu u

ugradnji timidina. Smanjena sinteza DNA vrlo je često u vezi sa smanjenjem aktivnosti o cinku ovisne deoksitimidin kinaze (38). Preko 500 proteina uključenih u regulaciju transkripcije i replikacije sadrži cinkove ione. Postoje tri tipa regulacijskih proteina, "zinc finger", "zinc twist" i "zinc cluster" (Slika 4), koji posjeduju domene koje vežu DNA (35). Ove su domene na slici označene zasjenjeno.



Slika 4. Shematski prikaz (A) "zinc fingers" proteina Zif 268, (B) "zinc twist" glukokortikoidnog receptora, (C) "zinc cluster" GAL4 transkripcijskog čimbenika (35)

Figure 4. Schematic presentation of (A) zinc fingers of Zif 268 protein, (B) zinc twist of glucocorticoid receptor and (C) zinc cluster of GAL4 transcription factor (35)

"Zinc finger" proteini, koji ne posjeduju enzimsku aktivnost, pronađeni su samo u eukariota. Neki se od ovih proteina vežu na promotorska mjesta DNA. Njihova struktura nije potpuno poznata, no utvrđena je zajednička "zinc finger"

sekvencija. Cink je smješten u ponavljajućim petljama proteina od tridesetak aminokiselina. Ovi se neenzimski proteini značajno razlikuju u strukturi od cink-vezujućih enzima. Za razliku od enzima, u kojima se nalaze jedan, dva ili tri cinkova iona, u "zinc finger" strukturi može ih se pronaći i tridesetak (20).

Cink je potreban za biološku ulogu metalotioneina koji imaju ulogu u uklanjanju teških metala iz organizma (39) i sprječavanju oslobađanja slobodnih radikala (40). Ekspresija gena za metalotioneine regulirana je posredstvom MTF-1 ("metallothionein transcription factor") i ovisna je o slobodnom cinku. Sintetizirani metalotioneini vežu cink, čime se gubi njegov učinak na MTF-1. MTF-1 tako djeluje kao senzor za cink i regulira njegovu homeostazu (26).

CINK I IMUNOLOŠKI SUSTAV

Nutricijska komponenta cinka je presudna za normalan razvoj i održavanje imunološkog sustava (41). Esencijalan je za diferencijaciju i dozrijevanje T-stanica kako u timusu, tako i izvan njega. Potreban je za biološku aktivnost timusnog hormona timulina (42). U aktivnom obliku nastalom vezanjem cinka timulin je odgovoran za djelovanje stanične imunosti (43). Smanjena aktivnost timulina kod starih miševa posljedica je smanjene biorasploživosti cinka na periferiji za zasićenje svih proizvedenih molekula timulina. Dodatkom cinka hrani starih miševa ispravljaju se navedeni poremećaji.

Tijekom starenja ili kod karcinoma, reducira se biorasploživost cinka za timulin, pri čemu, čini se, značajnu ulogu imaju metalotioneini, s obzirom da je Kd cinka za metalotioneine (čija je koncentracija nekoliko puta veća kod starih nego kod mladih miševa) manja od one za timulin (43). To se može odraziti na sniženje aktivnosti timusa i periferne imunosti. Cink također ima važnu ulogu u izvantimusnoj diferencijaciji T-stanica, koja se najvjerojatnije odvija u jetri, a koja osobito dolazi do izražaja u starijih osoba (44).

Cink se stoga smatra odgovornim za razvoj imunološke disfunkcije tijekom starenja. Smatra

se da je reducirana biorasploživost cinka, do koje dolazi starenjem, glavni razlog involucije timusa. Kao posljedica, javlja se poboljšanje periferne imunosti (43).

Ovisno o težini i dužini trajanja, nedostatak cinka uzrokuje hipoplaziju ne samo timusa, već i slezene, limfnih čvorova te Peyerovih pločica. Promjene u populaciji limfocita, sniženje ukupnog broja T-limfocita i povećanje broja B-limfocita, reducirana aktivnost T-pomoćničkih stanica, smanjena aktivnost NK stanica, obilježja su nedostatka cinka u organizmu. Također je smanjena uloga supresorskih T-stanica kao i stvaranje citotoksičnih limfocita u slezeni. Uloga neutrofila nije promijenjena uslijed nedostatka cinka (45).

Mehanizam kojim cink utječe na imunološki sustav, zbog svega opisanog, zacijelo je vrlo složen. Ovome se može dodati uloga u sintezi i/ili otpuštanju raznih limfokina, kao što je IL-2, što zajedno uzrokuje smanjenje imuniteta u starijoj životnoj dobi (43). Nedostatak nekih drugih teških metala (željezo, bakar, selen) također smanjuje imunološki odgovor (45).

CINK I TUMORSKI RAST

Kod miševa s transplantiranim tumorom porast koncentracije metalotioneina, induciran kad mijem, uzrokuje ograničenje biorasploživosti cinka u tumorskom tkivu. Tumorski je rast inhibiran ne samo kod miševa sa smanjenim količinama cinka u hrani prije transplantacije već i nakon nje. Ograničenje unosa cinka uzrokuje supresiju rasta tumora (46).

Inhibicija rasta tumora općenito se javlja kao posljedica nedostatka cinka u organizmu, neovisno o vrsti stanica, brzini rasta stanica, vrsti ili mjestu rasta. To nije iznenađujuće, s obzirom da je cink neophodan za umnažanje stanica i sintezu proteina. Neki podaci pokazuju da i velike količine cinka unešene u organizam štakora mogu uspješno spriječiti razvoj karcinoma usta djelovanjem kemijskog kancerogena. Međutim, kada je zaštita nadvladana, velike količine cinka su ubrzale rast tumora (10).

BIOCHEMISTRY OF ZINC

ABSTRACT – Zinc is an essential oligoelement. It has three functions in metabolism: catalytic, co-catalytic, and structural. Zinc is required for the activity of more than 300 enzymes, over 500 gene regulator proteins, with many other roles inside and outside the cell. Considering its importance in cell replication and differentiation, programmed cell death, DNA transcription, function of biological membranes and immunological system, degradation of extracellular peptides (hormones), collagen synthesis and degradation, zinc probably has a major role in enabling a proper

function of different tissues, organs and organic system in general. Diet zinc deficiency, like iron-deficiency anemia, is a common problem throughout the world. Diet zinc deficiency is related with numerous symptoms. Besides, many disorders are characterized by lack of zinc in organism.

Key words: zinc, proteins, enzymes.

LITERATURA

1. Vallee BL, Auld DS. Zinc coordination, function and structure of zinc enzymes and other proteins. *Biochemistry* 1990; 29:5647-59.
2. Štraus B. U: Medicinska biokemija. Zagreb: JUMENA, 1992; 716-8.
3. Khoo C, Cousins RJ. Purification and properties of rat cysteine-rich intestinal protein. *Biochem J* 1994; 299(2): 445-50.
4. Argiratos V, Samman S. The effect of calcium carbonate and calcium citrate on the absorption of zinc in healthy female subjects. *Eur J Clin Nutr* 1994; 48(3):198-204.
5. Whittaker P. Iron and zinc interactions in humans. *Am J Clin Nutr* 1998; 68(2):442S-446S.
6. Wapnir RA, Stiel L. Zinc intestinal absorption in rats: specificity of amino acids as ligands. *J Nutr* 1986; 116(11): 2171-9.
7. Lee SY, Wapnir RA. Zinc absorption in experimental osmotic diarrhea: effect of long-chain fatty acids. *J Trace Elem Electrolyt Health Disease* 1993; 7(1):41-6.
8. Turnbull AJ, Blakeborough P, Thompson RP. The effects of dietary ligands on zinc uptake at the porcine intestinal brush-border membrane. *Br J Nutr* 1990; 64(3):733-41.
9. Barrie SA, Wright JV, Pizzorno JE, Kutter E, Barron PC. Comparative absorption of zinc picolinate, zinc citrate and zinc gluconate in humans. *Agents Actions* 1987; 21(1-2):223-8.
10. Prasad AS. Clinical, biochemical and pharmacological role of zinc. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 1979; 20:393-426.
11. Burch RE, Hahn HK, Sullivan JF. Newer aspects of the roles of zinc, manganese, and copper in human nutrition. *Clin Chem* 1975; 21(4):501-20.
12. Prasad AS. Zinc and enzymes. In: Prasad AS, ed. *Biochemistry of Zinc*. New York: Plenum; 1993; 17-53.
13. Jacob RA, Sandstead HH, Munoz JM, Kleway LM, Milne DB. Whole body surface loss of trace metals in normal males. *Am J Clin Nutr* 1981; 34(7):1379-83.
14. Prasad AS. Clinical spectrum of human zinc deficiency. U: Prasad AS, ed. *Biochemistry of Zinc*. New York: Plenum; 1993; 219-58.
15. Bishop ML, Duben-Engelkirk JL, Fody EP. U: Bishop ML et al. (eds). *Clinical chemistry: principles, procedures, correlations*. JB Lippincott Company, 1992; 290-1.
16. Nowak G. Alterations in zinc homeostasis in depression and antidepressant therapy. *Pol J Pharmacol* 1998; 50(1):1-4.
17. Black MM. Zinc deficiency and child development. *Am J Clin Nutr* 1998; 68(2):464S-469S.
18. O'Dell BL. Roles of zinc and copper in the nervous system. *Prog Clin Biol Res* 1993; 380:147-62.
19. Marchesini G, Fabbri A, Bianchi G, Brizi M, Zoli M. Zinc supplementation and amino acid-nitrogen metabolism in patients with advanced cirrhosis. *Hepatology* 1996; 23(5): 1084-92.
20. Frausto da Silva JJR, Williams RJP. U: Frausto da Silva JJR, Williams RJP (eds). *The biological chemistry of the elements*. Oxford University Press, 1993; 299-318.
21. Vallee BL, Auld DS. Zinc metallochemistry in biochemistry. *EXS* 1995 73:259-66.
22. Bettger WJ, O'Dell BL. A critical physiological role of zinc in the structure and function of biomembranes. *Life Sciences* 1981; 28(13):1425-38.
23. Pasternak CA. A novel role of Ca^{2+} and Zn^{2+} : protection of cells against membrane damage. *Bioscience Reports* 1988; 8(6):579-83.
24. Cabre M, Folch J, Gimenez A, Matas C, Pares A, Caballeria J, Paternain JL, Rodes J, Joven J, Camps J. Influence of zinc intake on hepatic lipid peroxidation and metallothioneins in alcoholic rats: relationship to collagen synthesis. *Int J Vitam Nutr Res* 1995; 65(1):45-50.
25. Cao GH, Chen JD. Effects of dietary zinc on free radical generation, lipid peroxidation, and superoxide dismutase in trained mice. *Arch Biochem Biophys* 1991; 291(1):147-53.
26. RD Palmer. Regulation of metallothionein genes by heavy metals appears to be mediated by a zinc-sensitive inhibitor that interacts with a constitutively active transcription factor, MTF-1. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91:1219-26.
27. Kimball SR, Chen SJ, Risica R., Jefferson LS, LeureduPree AE. Effects of zinc deficiency on protein synthesis and expression of specific mRNAs in rat liver. *Metabol Clin Exp* 1995; 44(1):126-33.
28. Ehara Y, Yamaguchi M. Zinc stimulates protein synthesis in the femoral-metaphyseal tissues of normal and skeletally unloaded rats. *Res Exp Med* 1997; 196(6):363-72.
29. Alirezai M, Nairn AC, Glowinski J, Prémont J, Marin P. Zinc inhibits protein synthesis in neurons. Potential role of phosphorylation of translation initiation factor-2-a. *J Biol Chem* 1999; 274: 32433-8.
30. Kultty RK, Daniel RF, Ryan DE, Levin W, Maines MD. Rat liver cytochrome P-450b, P-420b, and P-420c are degraded to biliverdin by heme oxygenase. *Arch Biochem Biophys* 1988; 260(2):638-44.
31. Csérmely P, Szamel M, Resch K, Somogyi J. Zinc can increase the activity of protein kinase C and contributes to its binding to plasma membranes in T lymphocytes. *J Biol Chem* 1988; 263: 6487-90.
32. Mocchegiani E, Santarelli L, Muzzioli M, Fabris N. Reversibility of the thymic involution and of age-related peripheral immune dysfunctions by zinc supplementation in old mice. *Int J Immunopharmacol* 1995; 17:703-10.
33. Perry DK, Smyth MJ, Stennicke HR, Salvesen GS, Duriez P, Poirier GG, Hannun YA. Zinc is a potent inhibitor of the apoptotic protease, caspase-3. A novel target for zinc in the inhibition of apoptosis. *J Biol Chem* 1997; 272: 18530-33.
34. Breslow E, Girotti AW. The interaction of ribonuclease with metal ions. I. Studies of cupric and zinc ions and the

- effect of cytidylic acid. *J Biol Chem* 1966; 241(23):5651-60.
35. Vallee BL, Auld DS. Zinc metallochemistry in biochemistry. *EXS* 1995; 73:259-77.
36. Kim EE, Wyckoff HW. Reaction mechanism of alkaline phosphatase based on crystal structures. Two-metal ion catalysis. *J Mol Biol* 1991; 218:449-64.
37. Hansen S, Hough E, Svensson LA, Wong YL, Martin SF. Crystal structure of phospholipase C from *Bacillus cereus* complexed with a substrate analog. *J Mol Biol* 1993; 234:179-87.
38. Prasad AS, Beck FW, Endre L, Wenonah H, Kukuruga M, Kumar G. Zinc deficiency affects cell cycle and deoxythymidine kinase gene expression in HUT-78 cells. *J Lab Clin Med* 1996; 128(1):51-60.
39. Cherian MG. The significance of the nuclear and cytoplasmic localization of metallothionein in human liver and tumor cells. *Environ Health Perspect* 1994; 102(3):131-5.
40. Greenstock CL, Jinot CP, Whitehouse RP, Sargent MD. DNA radiation damage and its modification by metallothionein. *Free Rad Res Comm* 1987; 2:233-9.
41. Wellinghausen N, Kirchner H, Rink L. The immunobiology of zinc. *Immunol Today* 1997; 18(11):519-21.
42. Dardenne M, Pleau JM, Nabama B, Lefancier P, Denien M, Choay J, Bach JF. Contribution of zinc and other metals to the biological activity of the serum thymic factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1982; 79:5370-3.
43. Mocchegiani E, Santarelli L, Muzzioli M, Fabris N. Reversibility of the thymic involution and of age-related peripheral immune dysfunctions by zinc supplementation in old mice. *Int J Immunopharmacol* 1995; 17:703-18.
44. Mocchegiani E, Verbanac D, Santarelli D, Tibaldi A, Muzzioli M, Radošević-Stašić B, Milin Č. Zinc and metallothioneins on cellular immune effectiveness during liver regeneration in young and old mice. *Life Sciences* 1997; 61(12):1125-45.
45. Chandra RK. Trace element regulation of immunity and infection. *J Am Coll Nutr* 1985; 4(1):5-16.
46. Takeda A, Goto K, Okada S. Zinc depletion suppresses tumor growth in mice. *Biol Trace Elem Res* 1997; 59(1-3):23-9.